

(様式 1-1)

提出日：2025 年 4 月 13 日

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。)

クライオ電子顕微鏡

(2) 研究代表者

氏名：寿野 良二

所属機関名・部局名・職名：関西医科大学・医学部・准教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入してください。)

創薬開発に資するヒト膜タンパク質の構造解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：加藤貴之教授 (研究室名：電子線構造生物学研究室)

(5) 研究成果の概要

κ -オピオイド受容体 (KOR) は G タンパク質共役受容体 (GPCR) ファミリーに属し、G タンパク質シグナル伝達を優先的に活性化する KOR アゴニスト (バイアスアゴニスト) は、鎮痛や抗搔痒効果を維持しつつ、薬物嫌悪感や鎮静などの副作用を軽減できる可能性から治療薬として注目されている。

本研究では、クライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) を用いて、ナルフラフィンまたは U-50,488H が結合したヒト KOR-Gi シグナル伝達複合体の高分解能構造を解析し、薬理的解析と統合することによってバイアスシグナル伝達機構の分子基盤の解明を目的とした。我々は cryo-EM 単粒子解析により、KOR-Gi 複合体におけるリガンドの結合様式を詳細に可視化することに成功した。さらに赤外分光法による解析を行い、リガンド結合依存的な KOR の動的な構造変化を検出したところ、特異的に変化するアミノ酸残基を同定した。これらの構造情報を基盤として薬理的解析を実施し、K227^{5,40}、C286^{6,47}、H291^{6,52}、Y312^{7,34} (上付き文字は Ballesteros-Weinstein 番号) の 4 残基が β -アレスチンリクルートメントに重要な役割を果たすことを明らかにした。これら 4 つの変異体について分子動力学 (MD) シミュレーションを用いて詳細に検討したところ、 β -アレスチンリクルートメント活性の低下と相関する特異的な立体コンフォメーションを同定した。

以上の結果から、同定された 4 つのアミノ酸残基 (K227^{5,40}、C286^{6,47}、H291^{6,52}、Y312^{7,34}) が KOR の G タンパク質シグナル伝達および β -アレスチンリクルートメント活性の選択的制御に決定的な役割を果たしていることが示された。本研究の知見は、KOR を標的とする際に副作用を最小化しながら治療効果を最大化する、より安全かつ有効な薬剤設計戦略の分子基盤を提供するものである。現在、bioRxiv に出版済みで、Nature Communications に投稿、査読中である。